Dall'Istituto di Patologia Medica Dimostrativa della R. Univ. di Pavia
diretto dal Prof. Inc. Maurizio Ascoli.

Di alcune esperienze di immunizzazione attiva contro la febbre tifoide nell'uomo

PEL

Dott. GIAMBATTISTA GARZOLI

Estratto dal "Corriere Sanitario" (N. 46-47-48) 1908

SUNA
STAB. TIPOGRAFICO GIROLDINI E FIGLI
1909

Dall'Istituto di Patologia Medica Dimostrativa della R. Univ. di Pavia
diretto dal Prof. Inc. Maurizio Ascoli.

Di alcune esperienze di immunizzazione attiva contro la febbre tifoide nell'uomo

PEL

Dott. GIAMBATTISTA GARZOLI

Estratto dal "Corriere Sanitario" (N. 46-47-48) 1908

SUNA
STAB. TIPOGRAFICO GIROLDINI E FIGLI
1909

PARTE PRIMA

I.

Le prime esperienze di immunizzazione attiva contro il tifo.

Fallite le esperienze di terapia *antitossica* della febbre tifoide (Chantemesse e Vidal, Pfeiffer, Wassermann) data la brevissima durata dell'immunizzazione passiva antibatterica e gli inconvenienti e pericoli delle reiterate iniezioni di siero preventivo, gli autori si applicarono a riprendere i tentativi di immunizzazione attiva, avendone di mira la possibile applicazione profilattica all'uomo.

Furono istituite sugli animali da laboratorio esperienze mediante iniezioni di bacilli di Eberth variamente attenuati o uccisi, e risultò che lo siero di tali animali acquistava marcate proprietà agglutinanti e batteriolitiche. E se si richiede un certo periodo di incubazione (1-12 giorni in media) per la comparsa di un adatto grado di immunizzazione attiva, questa è molto più valida e duratura di quella passiva, e l'organismo trattato, anche quando gli anticorpi formatisi sono da tempo scomparsi ed eliminati, *più prontamente reagisce e si difende contro una nuova sopravveniente infezione.*

Nell'uomo ci si limitò a provocare il processo reattivo d'immunizzazione mediante l'iniezione di bacilli di Eberth uccisi o di materiali da essi derivati, lasciando naturalmente da parte i germi viventi, sia pure attenuati, ed essendosi dimostrati infruttuosi i prodotti tossici dei batteri (Paladino Blandini 11).

I primi esperimenti d'immunizzazione attiva nell'uomo con colture uccise di tifo, datano dal 1896. Quasi contemporaneamente Wright in Inghilterra e Pfeiffer in Germania, dopo maturi studî e lunghe indecisioni si risolsero a trasportare nelle clinica quanto avevano già prima ripetutamente sperimentato e controllato sugli animali da laboratorio. Il Wright all'uopo si servì di colture in brodo, Pfeiffer e Kolle trovarono più pratiche le colture in agar. I soddisfacenti esiti ottenuti stimolarono gli autori all'applicazione su vasta scala del nuovo metodo profilattico, e dal 1896 al 1905 non furono meno di 100.000 le inoculazioni praticate dal Wright e dai suoi collaboratori sulle truppe inglesi dell'India, di Cipro, Egitto e dell'Africa del Sud durante la guerra anglo-boera.

Le esperienze in seguito instituite dalla Commissione tecnica, nominata dal Governo Germanico nelle personalità più competenti in batteriologia (Koch, Gaffky, Kirschner, Dönitz, Kolle) acciò sceverasse e controllasse l'efficacia e l'utilità delle inoculazioni preventive contro il tifo e ne indicasse il metodo migliore, riuscirono ad una completa conferma delle conclusioni dei primi sperimentatori (7). E da allora ben 4000 soldati dell'esercito coloniale tedesco del Sud-Africa, furono inoculati e tuttora vanno inoculandosi le truppe destinate a quelle regioni infestate dal tifo.

Il merito di essersi messo pel primo su questa via in Italia e di aver proceduto ad inoculazioni preventive sull'uomo spetta tutto al prof. Sclavo di Siena (14), dietro il consiglio e la direzione del quale furono poi dal Cortellini (3), dal Triglia e dal Mazzuoli (15) eseguite buon numero di iniezioni in territorii della Toscana in cui è endemica la febbre tifoidea.

II.

I diversi metodi di immunizzazione attiva contro il tifo.

I metodi di immunizzazione attiva contro il tifo proposti ed esperimentati dai varii autori si riducono a 6 principali. Il metodo di Wright, quello di Pfeiffer e Kolle (del quale il metodo Bassenge-Rimpau non costituisce che una variante) di Neisser e Shiga, di Wassermann, di Besredka e di Friedberger e Moreschi.

Wright (18) prepara il suo materiale di iniezione seminando in un pallone di Erlenmayer, riempito di brodo debolmente alcalino, una coltura pura di tifo e lo tiene in termostato a 37° per 14 giorni. Controllato il nessun inquinamento del contenuto con altri batteri, lo sterilizza portandolo per due ore a 60°. Riscontratane nuovamente la sterilità con doppie semine in agar e in brodo, il vaccino viene trattato con soluzione fenica sterile al 0.5 % onde assicurarne viemmeglio la conservazione, dopo di che è pronto per l'innesto. La dose, fissata dal Wright prima in quella quantità di brodo sterile che, inietata nel peritoneo di una cavia di 100 grammi è ancora capace di ucciderla, venne poi dallo stesso modificata e stabilita sul contenuto bacillare (da 1000 a 1500 milioni per cmc.) con un mezzo di numerazione genialissimo, ma di difficile applicazione e controllo.

Pfeiffer e Kolle (12), invece che a colture in brodo, si attennero a colture di 24 ore in agar, come quelle che meglio si prestano ad una conveniente e sicura misurazione. Quale unità di misura del materiale di innesto fu dal Pfeiffer stabilita l'ansa normale di platino, colla quale si riesce ad asportare da una coltura fresca in agar circa 2 milligrammi di bacilli; ma, ad evitare la troppo lunga e facilmente inquinabile pratica della misurazione delle singole anse si utilizzò come punto di partenza la massa coltu-

rale di un tubetto di agar seminato con una grande ansa di platino e mantenuto in seguito a 37° per 24 ore; quantità che presso a poco corrisponde a 10 anse normali e a 20 mmg. di bacilli.

La coltura uniformemente diffusa che si otteneva in un dato numero di tubetti, veniva ripresa in 4-5 cmc. di soluzione fisiologica sterile per ciascun tubetto. Previa infiltrazione attraverso a garza sterile per trattenere i frammenti di agar che per avventura fossero convogliati con la soluzione, si raccoglieva il tutto in un pallone di Erlenmayer sterilizzato dove, uccisi i bacilli col tenerli a 60° per due ore a bagnomaria, e controllatane la perfetta sterilità con doppi innesti in agar e brodo, si aggiungeva 0.5 cm. di soluzione fenica al 3% per quanti tubetti vi erano stati disciolti, dopo di che tutto era pronto per le iniezioni.

La modificazione proposta colle «piccole dosi» di Bassenge e Rimpau (1) al metodo di Pfeiffer-Kolle consiste essenzialmente in ciò che, invece di 1-2-3 anse normali per iniezione, si usano quantità molto minori: 1/30-1/15-1]5 di ansa. Ora tale modificazione, che secondo gli autori avrebbe dato minimi disturbi locali e generali, aumentando invece di assai il titolo agglutinante e battericida del siero, ai controlli posteriormente istituiti (Hetsch e Kutscher) mentre diede disturbi locali per lo meno eguali a quelli ottenuti colle «grandi dosi» di Pfeiffer-Kolle e solo minori i fenomeni generali, sortì un effetto utile in batteriolisine ed agglutinine assai piccolo, trascurabile in confronto alle prime.

Col metodo dei «ricettori liberi» di Neisser-Shiga e con quello di Wassermann i bacilli non vengono introdotti nell'organismo conservati nella loro forma: essi sono prima disciolti coll'autolisi. Si pensò così d'ottenere un preparato che fosse più facilmente assorbibile e producesse minori e più limitati disturbi locali, e si sperò di avere prodotti meno tossici e irritanti che non tutta la sostanza del corpo bacillare, pur essendo egualmente immunizzanti.

Il metodo di Neisser e Shiga (9) si distingue da quello di Pfeiffer-Kolle in ciò che dopo la sterilizzazione a 60° la massa colturale, preparata colle stesse norme del metodo di Pfeiffer-Kolle, viene mantenuta in termostato per due giorni a 37° ad autolizzare. Filtrata la soluzione autolizzata attraverso un filtro di Reichel, che non lascia passare alcun residuo batterico e constatatane la sterilità, essa è pronta per l'innesto.

Wassermann (17) procede in primo tempo al tutto come nel metodo di Neisser-Shiga, solamente, ottenuto il filtrato autolizzato (ricettori liberi), egli lo essica in apparecchio a vuoto fino a residuo secco ricavandone una polvere bianco-gialliccia. Per l'iniezione questa viene sciolta in soluzione fisiologica in proporzione tale che un cmc. corrisponda al residuo secco di 6 anse normali di coltura in agar, ossia a 0.0017 grammi di polvere d'innesto.

La preparazione del vaccino di Besredka (2) è identica a quella del vaccino di Pfeiffer-Kolle. Qui però, ad evitare il periodo d'incubazione, che in tutti i metodi si ha, di circa 8-10 giorni dal momento dell'iniezione a quello della comparsa delle nuove proprietà nel sangue, sui bacilli uccisi a 56°-60° si fa agire per dodici ore circa del siero antitifico, il quale li agglutina e li precipita, caricandoli di sostanza fissatrice per cui, appena inoculati, essi diverrebbero quasi istantaneamente preda dei fagociti che diversamente avrebbero impiegato ore e giorni a distruggerli completamente. I bacilli così agglutinati, vengono poi accuratamente lavati e privati d'ogni traccia di siero; indi, emulsionati omogeneamente in soluzione fisiologica sterile, sono pronti per l'iniezione.

Ultimi cronologicamente Friedberger della scuola di Pfeiffer e Moreschi di questo Istituto di Patologia nel 1906 (6) proposero e sperimentarono un nuovo metodo, basato sulla iniezione endovenosa di dosi piccolissime di bacilli del tifo, uccisi a 120°. Una data quantità di coltura su agar veniva essicata fino a peso costante, indi uccisa a 120° col metodo di Löffler

e triturata e ripresa poi quantitativamente con poca soluzione fisiologica sterile, fino ad averne una massa completamente omogenea. Di questo materiale dosi minime 1/2000-1/4000, eguali 0.00039-0.000139 milligrammi bastavano per provocare una reazione batteriolitica ed agglutinante vivissima.

Questi diversi metodi escogitati dagli autori, in ultima analisi si basano su due principi fondamentali: cogli uni i corpi batterici vengono iniettati tal quali lasciando all'organismo il compito di disgregarli, sciogliere antigeni ed endotossine; cogli altri gli antigeni verrebbero iniettati già sciolti.

III.

Effetti ed esiti delle inoculazioni di vacino antitifico

Alle iniezioni dei vaccini antitifici preparati con qualunque dei metodi sopradescritti, fanno seguito fenomeni varii.

Essi, essenzialmente identici nei diversi individui, si possono distinguere in: fenomeni immediati che compaiono dopo l'iniezione, hanno breve durata e sono costituiti da sintomi di reazione locale e generale di intensità diversa a seconda del metodo impiegato e dell'individuo trattato, ed in fenomeni tardivi consistenti nelle nuove proprietà specifiche batteriolitiche ed agglutinanti del siero.

La comparsa di questi poteri protettivi dello siero principia per lo più verso l'ottavo giorno e segue poi gradatamente fino a raggiungere il massimo verso il 15°-20° giorno per il potere batteriolitico, verso il 20°-25° per l'agglutinante; dopo in generale assumono un andamento lentamente decrescente, variante a seconda degli individui cosicchè mentre in alcuni essi sono già scomparsi dopo qualche mese, in altri permangono ancora manifesti ed evidenti dopo 1 o 2 anni.

Sul controllo appunto del valore raggiunto in anticorpi specifici e sull'esame delle statistiche che ne mettono chiaramente in rilievo il valore pratico, gli autori fondano il criterio di giudizio sull'immunizzazione raggiunta coi diversi processi.

Di questi, massima diffusione ebbero fra tutti il metodo di Wright e quello di Pfeiffer-Kolle, specie in seguito alle favorevoli conclusioni della Commissione Germanica.

Del primo, come già fu detto, sommarono a più di 100.000 le inoculazioni praticate dal 1896 al 1906 in ogni parte delle colonie inglesi, nelle zone più disparate e diverse di clima e di ambiente. Del secondo furono iniettati più di 4000 soldati destinati alle colonie tedesche dell'Africa del Sud-Ovest.

Con entrambi i metodi si ottengono reazioni locali e generali marcate, ed elevato potere batteriolitico ed agglutinante fino all'1: 1000 pel Pfeiffer-Kolle un po' minore pel Wright secondo i controlli di Hetsch e Kutscher (7). L'efficacia però della immunizzazione raggiunta, meglio che dal potere batteriolitico ed agglutinante raggiunto — il cui nesso coll'immunità vera e propria non è ancora definitivamente chiarito — è assodata dal potere preventivo evidentemente provato dalle statistiche del Wright e del Leishmann (19) pel metodo inglese, da quelle del Morgenroth per quello tedesco, dalle quali appare la morbilità fra gli iniettati diminuita almeno della metà, e, nei casi in cui nonostante l'iniezione insorgeva la malattia, la mortalità ridotta a meno della metà rispetto ad altri ammalati non inoculati viventi nello stesso ambiente; e tuttociò pur operando in difficilissime condizioni e con personale inesperto.

Tale potere preventivo permane valido ed efficace per anni ed anni dopo le iniezioni; esso pure come gli anticorpi specifici presenta un notevole aumento se si ripetono le inoculazioni, come consigliano gli autori, alla distanza di 8-10 giorni.

Ward (16) su un dato numero di tifosi osservati durante la guerra anglo-boera notò il 2.34% di indi-

vidui inoculati due volte con materiale antitifico, il 4.10% di iniettati una sol volta e ben l'8.40% di di non inoculati.

Del metodo di Neisser-Shiga le esperienza di Shiga (13) e di Sclavo (14) danno minime reazioni locali e generali e grande aumento di batteriolisini e agglutinina, fino all'1: 640 (Shiga), all'1: 400 (Sclavo). Ricerche ulteriori diedero risultati meno favorevoli; e i controlli di Hersch e Kutscher (7) ottennero evidente reazione locale e generale, batteriolisi ed agglutinazione debole e leggera, oscillante tra l'1: 50 e l'1: 100.

Anche di questo metodo, l'unica statistica dà un preventivo ottimo: su 163 inoculati in Toscana dal Cortellini (3) Triglia e Mazzuoli (15) in pieno focolaio di infezione, si ebbe un sol caso di tifo.

Consoni alle conclusioni del promotore riuscirono i risultati delle esperienze di Hetsch e Kutscher (7) col vaccino di Wassermann; minime reazioni locali e generali e discreto valore batteriolitico, ed agglutinante d'un tasso medio oscillante sull'1 : 100. Di questo metodo dal vaccino di difficile e delicata preparazione, e di cui finora rimangono isolate le esperienze dell'autore e le poche di Hetsch e Kutscher, nessuna luce può venirci da rilievi statistici.

Besredka (2) col suo vaccino, una combinazione di quello di Pfeiffer-Kolle col siero antitifico, mirò piuttosto alla soppressione del periodo di latenza intercedente tra la inoculazione dell'antigene e la comparsa degl'anticorpi, durante il quale l'organismo è più facilmente attaccabile dell'infezione tifosa (*fase negativa*). Esperienze eseguite su animali paiono avvalorare le asserzioni dell'autore (11): manca tuttavia finora una applicazione pratica all'uomo.

Col loro processo, sperimentato su alcuni individui, ultimamente Friedberger e Moreschi (6) riuscirono ad eliminare affatto ogni reazione locale, ottenendo invece, con una reazione generale di breve durata e di intensità presso a poco eguale a quella ottenuta coi metodi di Wright e di Pfeiffer-Kolle, un forte

potere agglutinante e batteriolitico, superiore di assai a quello ottenuto cogli altri metodi. Ma anche questo metodo ancor non fu sottoposto ad una sistematica applicazione e le esperienze originali degli autori, non furono fino ad oggi trasportate nella pratica.

PARTE SECONDA

I.

Scopo delle ricerche e tecnica usata.

Fu esposto nella rivista precedente lo stato attuale dell'immunizzazione attiva; nelle righe seguenti rendo conto di alcune esperienze eseguite in questo Istituto nell'intento di paragonare il valore immunizzatorio di alcuni fra i diversi metodi proposti dagli autori.

Ho dato la preferenza ai processi di Pfeiffer-Kolle e di Neisser-Shiga, come quelli che, mentre compendiano i due principii fondamentali su cui tutti si basano (iniezione dei corpi batterici tal quali, inoculazione del contenuto dei corpi batterici disciolti coll'autolisi), sono di più facile preparazione ed esecuzione e quindi più accessibili alla pratica.

I due vaccini furono preparati con colture del tifo campione del laboratorio e l'allestimento fu curato con tutte le norme stabilite dagli autori e precisate nella precedente esposizione.

Per la vaccinazione alla Pfeiffer-Kolle si procedeva a due inoculazioni, la prima di 0.5 ccm. di materiale, pari cioè ad un'ansa normale di agar-coltura di tifo di 24 ore; la seconda di 1 ccm. eguale a due anse normali, lasciando tra le due iniezioni un intervallo di 8-10 giorni, come prescritto.

Anche i ricettori liberi di Neisser-Shiga, venivano inoculati in due riprese e nelle stesse dosi di 0.5 ccm. la prima, pari a un'ansa; di 1 ccm., la seconda, equivalente a 2 anse di coltura. Qui però l'intervallo tra le due iniezioni fu tenuto più corto (2-5 giorni, sia perchè degli individui che si prestavano alle inoculazioni non si poteva più a lungo usufruire, sia anche per vedere se non potesse lo stimolo, rinnovato appena cessati i fenomeni reattivi generali e locali, meglio affrettare la comparsa delle nuove proprietà immunizzanti.

Il primo innesto venne fatto in tutte le esperienze in uno dei due quadranti inferiori dell'addome, dopo che su me stesso ebbi accertato che la iniezione riesce assai meno dolorosa in questa località, che non al torace come è consigliato dal Kolle; quivi ogni moto respiratorio un po' profondo ed ogni movimento degli arti superiori riesce assai molesto. La seconda inoculazione di regola si espletava sotto la cute del lato esterno del braccio, i disturbi locali mi risultarono lievi, qualora si evitassero i moti e le pressioni sull'arto.

Gli individui che si sottoponevano (col loro consenso) alle iniezioni erano scelti fra i ricoverati nel nostro Istituto per forme diverse di poca entità (gastro pazienti, nevrastenici, affezioni del sistema nervoso ecc. e si trovavano all'epoca delle esperienze in condizione di salute soddisfacenti; in tutti l'anamnesi induceva ad escludere una pregressa infezione tifoide.

II.

Protocolli

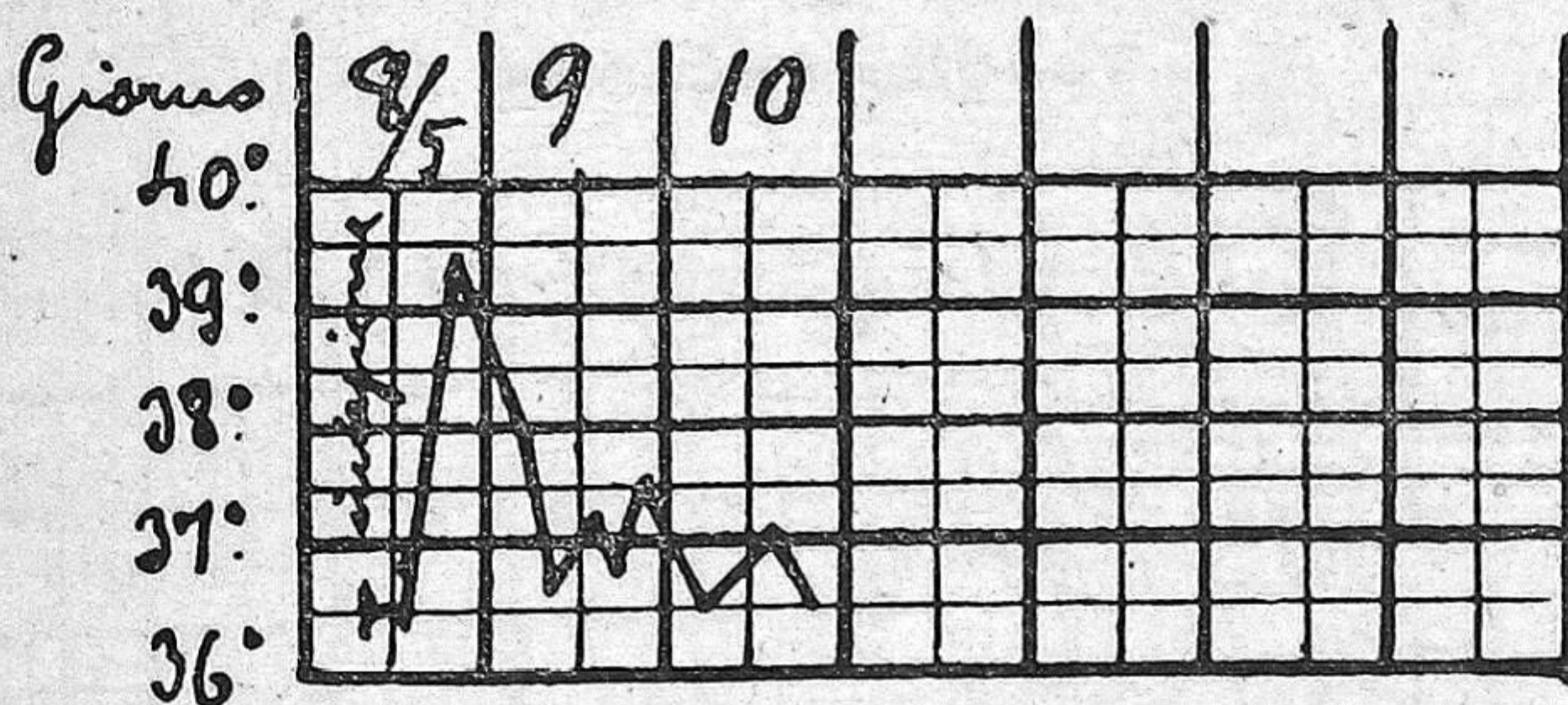
A. Col *metodo di Pfeiffer-Kolle* furono trattati 7 individui di cui sei furono potuti inoculare due volte.

N.° 1. Valeggiani Giuseppa di S. Giorgio Lomellina, d'anni 43, contadina.

8-v — 908. Iniezione di 0.5 ccm. del vaccino di Pfeiffer-Kolle al quadrante inferiore destro dell'addome.

Reazione locale - Subito dopo l'iniezione si va costituendo al luogo dell'innesto un'infiltrazione sierosa della cute e del cellulare sottocutaneo che dopo 4 ore si presenta di consistenza pastosa, delle dimensioni d'uno scudo, vivamente arrossata, rilevata sulla cute circostante dalla quale si demarca per un limite netto e preciso; è indolente spontaneamente, molto dolorosa invece alla palpazione, pressione e nei movimenti che comportino piegature della cute in loco. In seconda giornata l'infiltrazione, ancora dura, si è diffusa quanto un palmo di mano; va in seguito rapidamente dissolvendosi, finchè in terza giornata è completamente riassorbita, eccetto un piccolo nodulo al punto di iniezione che andrà scomparendo più tardi.

Reazione generale. Un'ora circa dopo l'inoculazione la paziente ha brivido abbastanza intenso per circa un'ora, seguito da senso generale di calore; contemporaneamente al brivido, insorge cefalea frontale, malessere, senso di rottura, d'abbattimento, di stanchezza, inappetenza, nausea, la notte è insonne ed agitata. In seconda giornata i fenomeni generali dileguano e spariscono. Per la temperatura vedi la tabella 1a.

Tabella prima

Sieroagglutinazione — La sieroagglutinazione, che il giorno dell'innesto era stata positiva fino all'1 : 20, nove giorni dopo è positiva all'1 : 60.

Non si può procedere ad altra iniezione dovendo la paziente ritornare al suo paese natio.

N. 2. — *Pizzali Maria* da Staghiglione di anni 55, contadina.

8-v-1908. Iniezione di ccm. 0.5 di vaccino di Pfeiffer-Kolle al quadrante inf. destro dell'addome.

Reazione locale. — Si ripetono i fenomeni registrati pel caso precedente e l'infiltrazione si presenta cogli stessi caratteri di evoluzione.

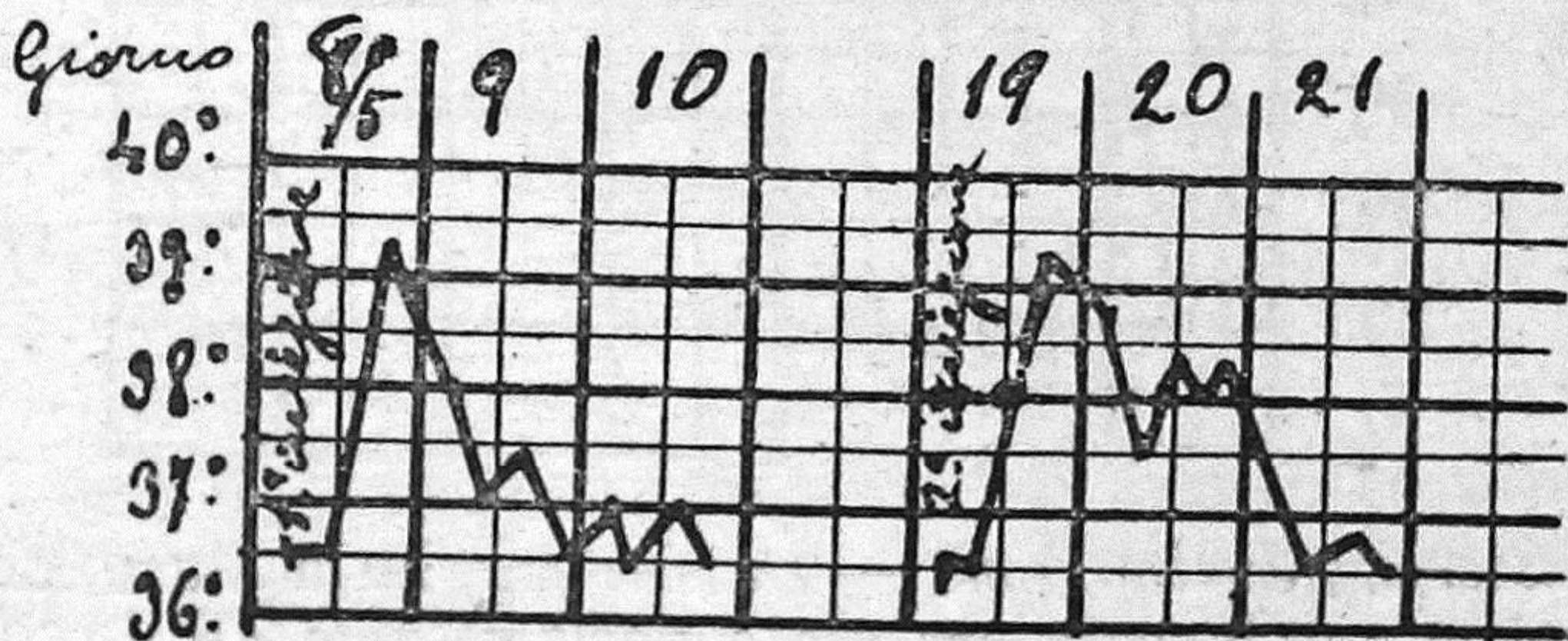
La *reazione generale* dà, dopo 4 ore circa, sensazione di freddo e brivido seguito dopo un'ora da caldo e accompagnato dai fenomeni generali già soprascritti che anche qui scompaiono in seconda giornata.

19-v-08. Iniezione di 1 ccm. di vaccino al braccio destro.

Reazione locale — I caratteri sono pressochè identici a quelli ottenuti alla prima iniezione. In seconda giornata l'infiltrazione si diffonde a tutta la regione inferiore, esterna e posteriore del braccio fino al gomito, avvolgendolo come in una semidoccia. Scompare in terza giornata.

Reazione generale. — Dopo due ore brivido di durata ed intensità lieve: cefalea piuttosto marcata, sensazione di malessere ed abbattimento generale. Tutto scompare sul finire della seconda giornata.

Per la temperatura vedi la tabella 2ª.

Tabella Seconda

La *sieroagglutinazione*, che il giorno 8 era stata completamente negativa all'1 : 10, il giorno 28 è positiva all'1 : 640.

N. 3 — *Dell'Acqua Angela* da Pieve Porto Morone di 20 anni, contadina.

8-v-1908. Iniezione di 0.5 ccm. di vaccino Pfeiffer-Kolle.

Reazione locale. — Dopo 4 ore si ha infiltrazione della cute e del cellulare sottocutaneo cogli stessi caratteri fisici e dolorosi, collo stesso ingredire svolgersi e colla medesima involuzione dei due primi esperimenti.

Reazione generale — Debole sensazione di freddo con leggera cefalea, sensazione di stanchezza e malessere. Tutto scompare in seconda giornata.

17-v-08. Iniezione di 1 ccm. del solito vaccino.

Reazione locale — L'infiltrazione ricopia i caratteri e l'evoluzione di quella del N. 2.

Reazione generale — Non brivido nè freddo; leggera cefalea frontale con lieve sensazione di abbattimento e stanchezza. In seconda giornata l'a. è nelle condizioni generali ottime di prima. L'aumento di temperatura fu trascurabile: arrivò a 37°, 4 alla prima iniezione, a 37°,6 alla seconda in prima e seconda giornata.

Sieroagglutinazione. — L'agglutinazione negativa all'1 : 10 il giorno 8, si è fatta positiva all'1 : 80 ed è dubbia all'1 : 100 il giorno 26.

N. 4. — *Poggi Maria* da Trovo di 40 anni, contadina.

20-III-1908. Iniezione di 0.5 ccm. di vaccino.

Localmente — Dopo 2 ore si ha infiltrazione profonda tutt'attorno al punto d'iniezione che in prima giornata ripete i caratteri e l'evoluzione dei casi procedenti; in seconda giornata si diffonde poco, presto fluidificandosi e dissolvensodi.

Reazione generale — All'infuori di un legger senso di calore, nessun altro fenomeno soggettivo.

29-III-08. Iniezione di 1 ccm. di vaccino.

Localmente infiltrazione come nei casi precedenti.

Reazione generale — Nulla.

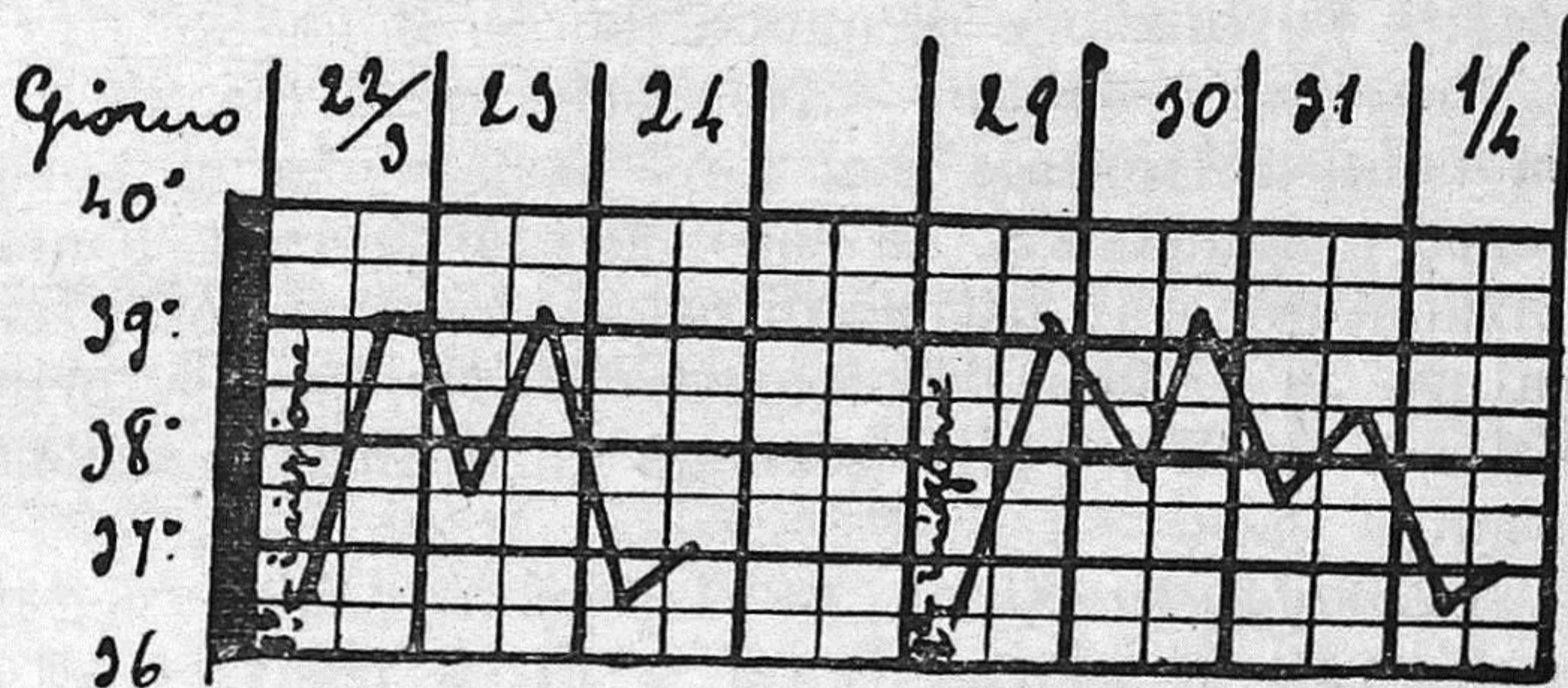
La temperatura segna 37°,9 alla prima iniezione, appena 37° alla seconda.

Sieroagglutinazione — Negativa all'1 : 5 il giorno 20 si fece positiva fino all'1 : 20 il giorno 29 e riesce decisa all'1: 80, dubbia all'1: 160 il 7-IV.

N. 5. — *Carenzio Gaetano* da Binasco di 51 anni, muratore.

22-III-08. Iniezione di 0.5 ccm. al quadrante inferiore destro dell'addome.

Reazione locale — Dopo 4 ore circa la solita infiltrazione locale pastosa coi caratteri di dolenzia, volume ed evoluzione degli altri soggetti. Di più qui dopo 10-12 ore si ha leggiero interessamento dei gangli inguinali superficiali di destra che in seconda

Tabella Terza

giornata si ingrossano e si fanno vivamente dolenti nei moti della coscia. Tale infiltrazione ghiandolare va risolvendosi rapidamente in seguito ad impacchi di soluzione borica tra la seconda e la terza giornata, nel qual tempo la infiltrazione sottocutanea si fluidifica e guadagna le parti più declivi abbandonando quelle più alte, per poi dileguarsi in terza giornata.

Reazione generale — Anche qui brivido intenso dopo due ore, durato circa mezz'ora, poi sensazione di freddo ed elevazione termica. Insieme cefalea intensa, costrizione frontale, malessere generale, stan-

chezza, senso di rottura, nausea, inappetenza. Polso frequente, ritmico, pieno; notte insonne e agitata. Dopo due giorni discesa alla norma della temperatura in mezzo a sudorazione profusa e scomparsa di tutti i fenomeni generali. Nulla nelle orine.

29-III-08. Iniezione al braccio destro di 1 ccm. La *reazione locale* presenta gli stessi caratteri fisici e dolorosi ed ha il solito ciclo di risoluzione. Non si ha però nessun interessamento ghiandolare.

La *reazione generale* dà senso di freddo senza brivido, con tutti i fenomeni generali che seguirono la prima iniezione. La loro scomparsa completa non si ebbe che in terza giornata.

L'andamento della temperatura è dato dalla tabella 3ª.

Agglutinazione — Negativa all'1: 10 il giorno 22/III, è diveunta positiva, all'1: 80 il giorno 29/III e arriva fino all'1: 640 il giorno 7-IV.

N. 6. *Bergamaschi Luigi* di Pavia, 25 anni, operaio.

26-III-1908. Iniezione di 0.5 ccm.

Reazione locale — Si ha subito dopo l'iniezione leggero dolore puntorio spontaneo, al punto d'inoculazione, dove in seguito si organizza la consueta infiltrazione coi caratteri già descritti nei protocolli antecedenti e con lo stesso ciclo di evoluzione. Anche qui i gangli superficiali del lato della iniezione si ingrossano e sono dolenti alla palpazione e nei moti dell'anca in principio della seconda giornata. Tutto sparisce in terza giornata.

Reazione generale — Dopo circa due ore il paziente è colto da brivido intenso della durata di circa un'ora e seguito da fenomeni generali simili a quelli osservati nel numero 5. Scompaiono tutti in seconda giornata.

1-IV-1908. — Iniezione di 1 ccm.

Reazione locale — Quadro sintomatico identico ai già descritti.

Reazione generale — Sensazione di freddo dopo 4

ore durata all'incirca mezz'ora, e seguita da senso di caldo, da innalzamento termico e dai fenomeni generali osservati alla prima iniezione. Nulla nelle orine. In seconda giornata tutto scompare.

L'innalzamento della temperatura è segnato nella tabella quarta.

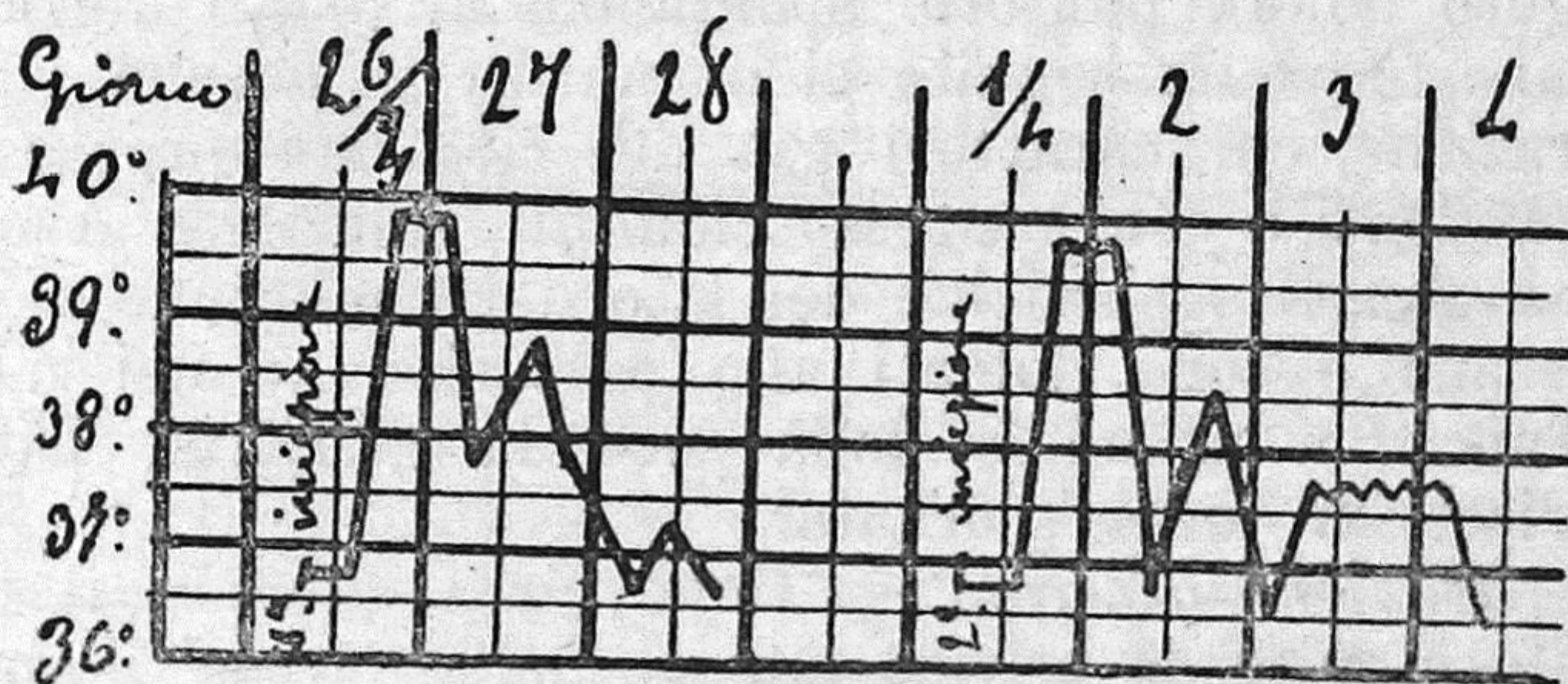
Siero agglutinazione. — Negativa all'1: 5 il giorno 26-III, si fa positiva fino all'1: 320 il 9-IV.

N. 7. — *Laurenti Rosa* di Pavia, di 50 anni, casalinga.

26-III-1908. Iniezione di 0.5 ccm.

Reazione locale — Dolore puntorio spontaneo al punto d'innesto che va svanendo mentre si stabilisce l'infiltrazione della cute e del sottocutaneo coi solidi caratteri fisici e dolorosi e col già più volte descritto svolgimento.

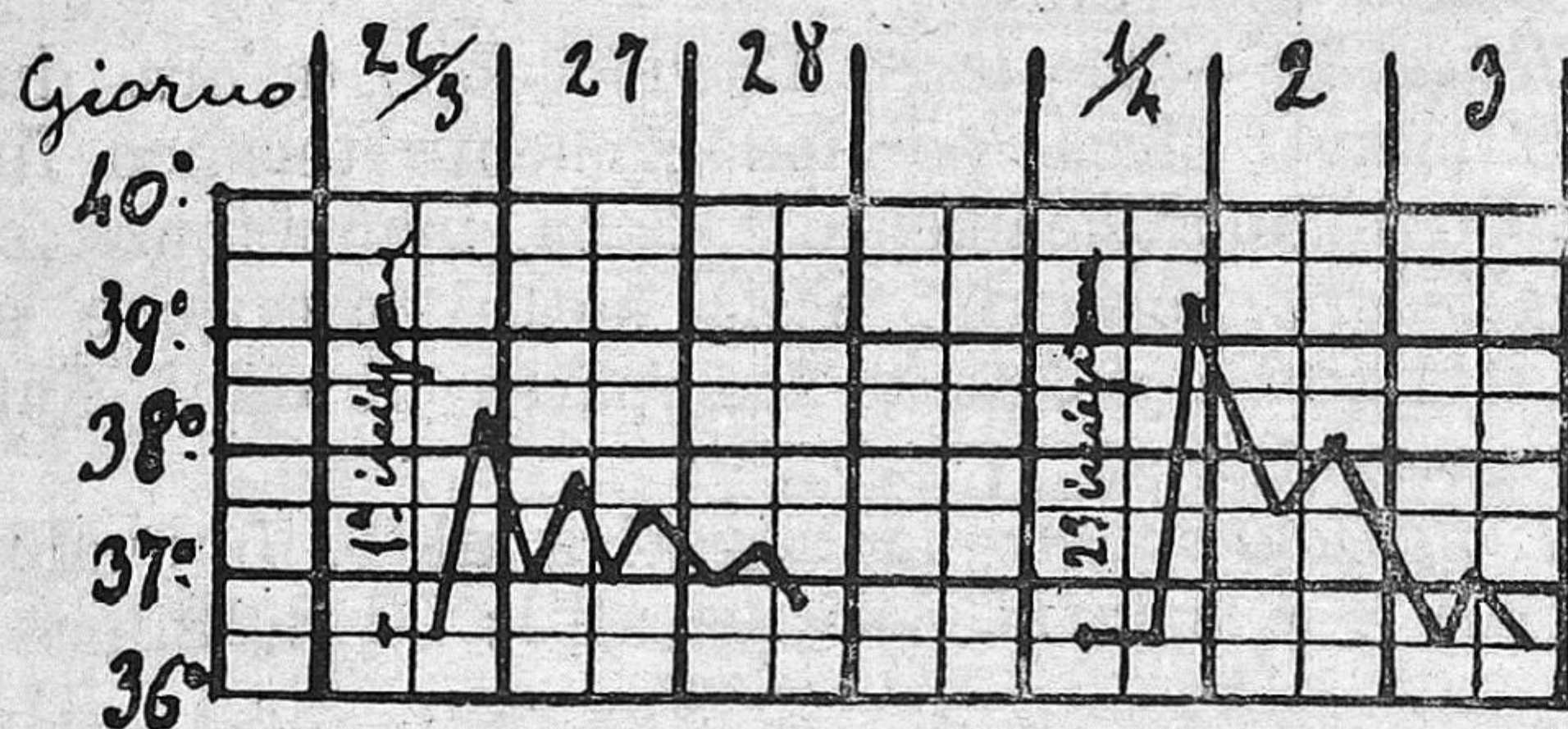
Reazione generale — Dopo due ore circa, malessere, abbattimento, senso di stanchezza sempre più accentuantesi: dopo 4 ore circa brivido durato quasi un'ora e seguito da innalzamento termico: non cefalea. Tutto scompare in seconda giornata.

Tabella quarta

2-IV-08. Iniezione di 0.5 ccm.

Localmente dolore puntorio al luogo di iniezione seguito dalla solita infiltrazione cutanea. Il ciclo di evoluzione è identico a quello della prima iniezione, ed anche qui in terza giornata è completamente risolto.

Reazione generale. — Dopo circa 4 ore si ha sensazione di freddo durata circa 2 ore e seguita da innalzamento termico insieme al solito corteo di fenomeni generali che svaniscono colla defervescenza in seconda giornata accompagnata da sudorazione profusa.

La curva termica è riprodotta nella tabella 5ª.

Tabella quinta

L'agglutinazione negativa all'1: 5 il 26-III, si è fatta positiva all'1: 20 l'1-IV ed è decisa all'1: 160 il 9-IV.

B. Col *vaccino di Neisser-Shiga* si iniettarono 9 persone, delle quali 2 ricevettero una sola dose.

N. 8. — *Garzoli Giov. Battista* di anni 25, studente.

3-XII-07. — Iniezione di 0.5 ccm. di vaccino Neisser-Shiga all'altezza della settima costa sulla ascellare anteriore.

Reazione locale — Dopo qualche ora si osserva infiltrazione profonda della cute e sottocutaneo che nella giornata si estende quanto un palmo di mano; essa è arrossata, pastosa, rilevata sulla cute circostante e ben delimitata da un margine netto. Sommamente dolorose vi riescono le pressioni e le palpazioni pur minime, qualunque brusco movimento del torace e del braccio destro. In terza giornata tutto è scomparso.

Reazione generale — Leggiera cefalea, anoressia per la durata di 24-36 ore. Innalzamento termico a 37° 2.

5-XII-07. Iniezioni di 1 ccm. di vaccino di Neisser-Shiga alla regione esterna del braccio sinistro.

Localmente l'infiltrazione è più pronunciata di quella della prima iniezione e scende in 24 ore gradatamente ad occupare tutta la regione postero-esterna del braccio e del gomito. Non variano i caratteri fisici e dolorosi da quelli della prima inoculazione: scomparsa in seconda giornata.

Reazione generale — Brivido dopo un'ora, durato trenta minuti circa, poi innalzamento termico fino a 38°2. Contemporaneamente cefalea, inappetenza, senso di malessere generale: nella notte agitazione e insonnia. Defervescenza e scomparsa di ogni sintomo in 2ª giornata.

L'agglutinazione da negativa all'1: 5 quale era il giorno 3 si è fatta positiva all'1: 20 il 18.

N. 9 *Maria Necchi*, d'anni 56, di Pavia, casalinga.

8-VII-07- Iniezione di 0.5 ccm. all'addome.

Localmente: arrossamento ovalare, infiltrato al punto di innesto che, dalla grossezza di uno scudo, va allargandosi quanto il palmo di una mano e anche più in 36 ore, dopo di che rapidamente si riassorbe. I caratteri fisici e dolorosi non differiscono da quelli ottenuti nei casi precedenti.

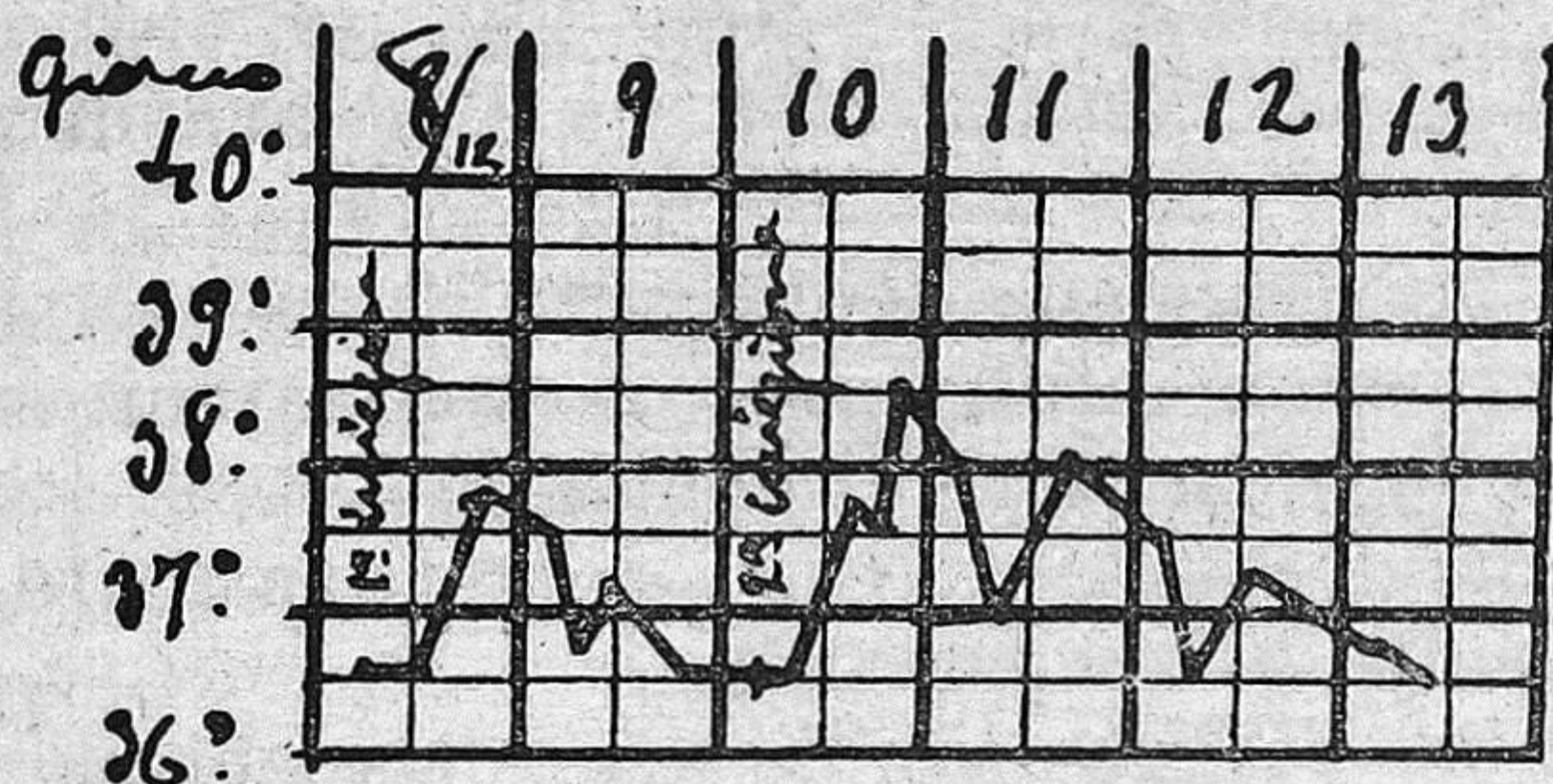
Reazione generale — Non cefalea nè inappetenza: soggettivamente leggero senso di calore per circa 12 ore.

10-XII-07. Iniezione di 1 ccm. al braccio sinistro.

Localmente formicolio e parestesie per qualche tempo, in seguito vi si organizza la solita infiltrazione della cute e del sottocutaneo coi caratteri di già descritti. Dopo il solito ciclo di evoluzione in terza giornata si risolve.

Reazione generale — Soggettivamente senso di calore dopo 2-3 ore circa: null'altro.

La curva termica è rappresentata nella tabella 6ª.

Tabella sesta

L'agglutinazione debolmente positiva fino all'1 : 5 il giorno 8, si è fatta decisa fino all'1 : 40 il giorno 18.

N. 10. *Albergati Maria* di anni 40, di Arena Po, contadina.

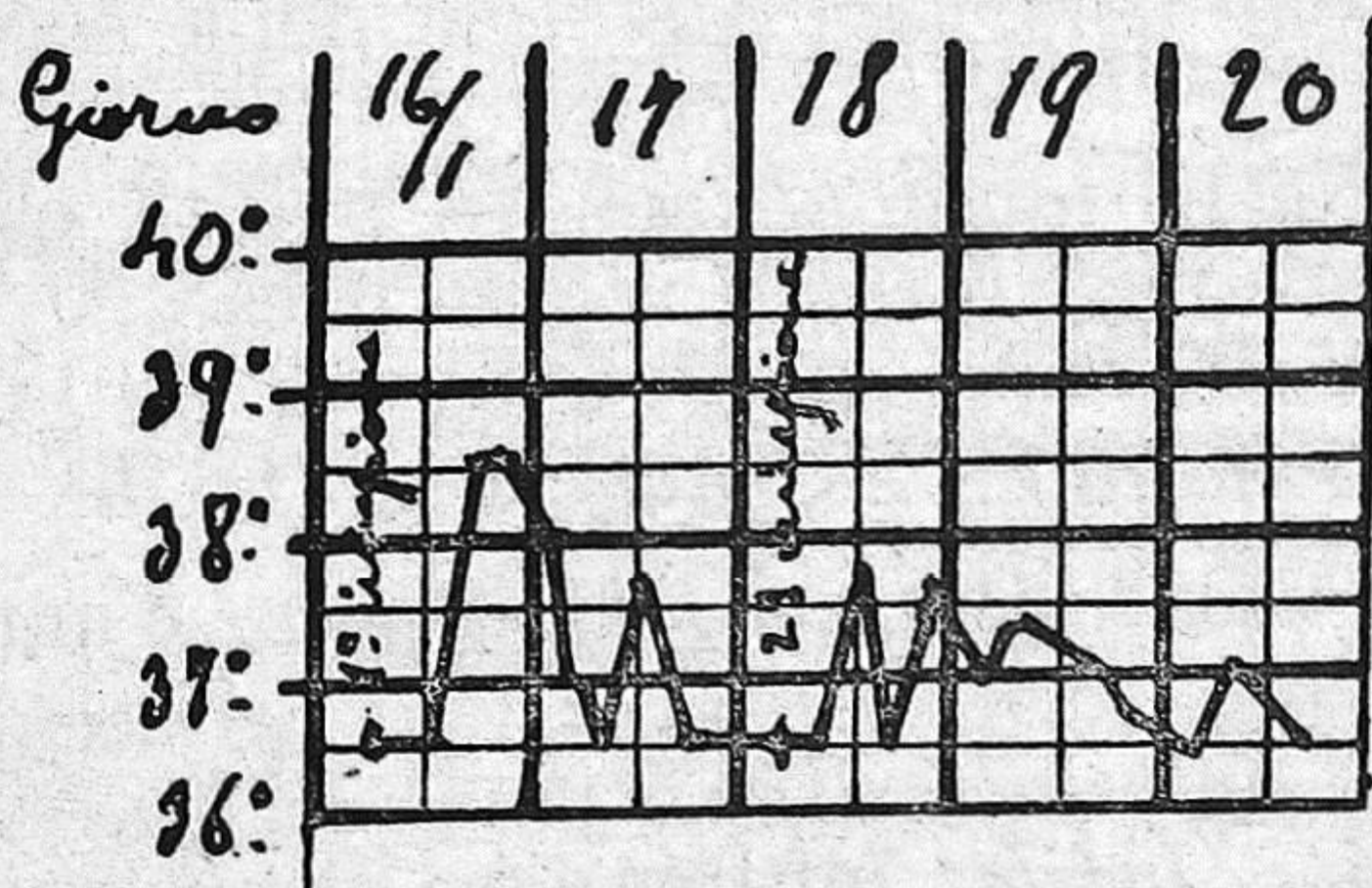
16-I-1908. Iniezione di 0.5 ccm. all'addome.

Localmente infiltrazione identica in tutto ai casi precedenti.

Reazione generale — Nulla soggettivamente all'infuori di un leggiero aumento di temperatura fino a 38°, 5.

19-I-908. Iniezione di 1 ccm. al braccio. Reazione locale in tutto simile a quella dei casi precedenti.

Reazione generale — Nulla soggettivamente: lievissimo innalzamento termico come scorgesi dalla tabella 7ª.

Tabella settima

L'agglutinazione positiva solo all'1: 10 il 16 di gennaio, è positiva all'1: 40 il 28.

N. 11. — *Preti Angela*, da Rognano di 46 anni, contadina.

24-I-08. Iniezione di 0.5 ccm.

Localmente: infiltrazione presentante i soliti caratteri e il solito ciclo di evoluzione.

Reazione generale: Nulla soggettivamente, nessun innalzamento di temperatura.

26-I-08. Iniezione di 1 ccm. di vaccino.

Localmente: infiltrazione coi caratteri della precedente.

Reazione generale — Leggiera cefalea che disturbò l'A. per dodici ore circa, null'altro e nessun aumento di temperatura.

Siero-agglutinazione: Positiva all'1: 5 il 24 gennaio, lo è all'1: 20 il 7 febbraio 1908.

N. 12. *Pellegri Bianca*, da Garlasco, di anni 48, contadina.

26-I-08. Iniezione di 0.5 ccm.

Localmente i fenomeni subbiettivi od obbiettivi non differiscono in nulla da quelli osservati negli altri casi.

Reazione generale — Dopo cinque ore brivido intensissimo, sensazione di grave malessere, polso piccolo, frequente, ritmico, dispnea accentuata. Il brivido cessa dopo circa un'ora e gli subentra aumenta di temperatura fino a 40° con rapida defervescenza in 12 ore circa, accompagnata da sudori profusi. Scomparsa di ogni fenomeno alla fine della seconda giornata.

La seconda iniezione non fu potuta eseguire essendo la Pellegri ritornata al suo paese.

La *siero-agglutinazione* negativa all'1: 5 il 26-I si fa positiva all'1: 20, dubbia all'1: 40 il 2-II.

N. 13. *Chiodi Martina*, da Pavia, d'anni 32, casalinga.

4-II-08. Iniezione di 0.5 ccm .

Reazione locale: Infiltrazione come nei casi pre-

cedenti, scomparsa entro la terza giornata.

Reazione generale: Nulla, nessun aumento di temperatura.

6-II-08. Iniezione di 1 ccm.

Reazione locale identica alle precedenti.

Reazione generale: nulla.

siero-agglutinazione positiva all'1:10 il giorno quattro, si fa positiva all'1: 20 il quattordici.

N. 14. *Perotti Carlo* di Dorno, di 18 anni, contadino.

1-II-08. Iniezione di 0.5 ccm.

Reazione locale: Si ha la solita infiltrazione locale dolente alla palpazione. Scompare in terza giornata.

Reazione generale: Leggero malessere con senso di calore, la temperatura sale fino a 38°, 8. Non cefalea: tutto svanisce in 12 ore circa .

Causa l'allontanamento del Perotti non si procede alla seconda inoculazione. La *siero-agglutinazione* completamente negativa prima delle iniezioni, diviene positiva all'1: 10 il giorno 10.

N. 15. *Malinverni Emilio*, da Genzone, d'anni 13.

1-III-08. Iniezione di 0.5 ccm.

Reazione locale: identica a quella dei casi precedenti.

Reazione generale: Leggero malessere presto scomparso: nessun aumento di temperatura.

4-II. Iniezione di 1 ccm.

Localmente: Gli stessi fenomeni dei casi precedenti.

Reazione generale: Nulla soggettivamente; il termometro dà un aumento di temperatura fino a 37°, 5.

Siero-agglutinazione: Negativa all'1: 5 il primo di febbraio, diviene positiva all'1: 10 il 14.

N. 16 *Giorgi Angela*, da Pavia d'anni 53, casalinga.

11-II-08. Iniezione di 0.5 ccm.

Localmente si ha la solita infiltrazione; dei *fenomeni generali*: leggera cefalalgia frontale, malessere ed inappetenza.

13-II-08. Iniezioni di 1 ccm.

Localmente: infiltrazione arrossata, pastosa solita di tutte le iniezioni, collo stesso ciclo di evoluzione.

Reazione generale. — Cefalea frontale intensa, stanchezza, malessere, ottundimento del sensorio, inappetenza; insonnia ed agitazione nella notte. Tutto scompare in terza giornata. Per la temperatura v. tabella 8.ª

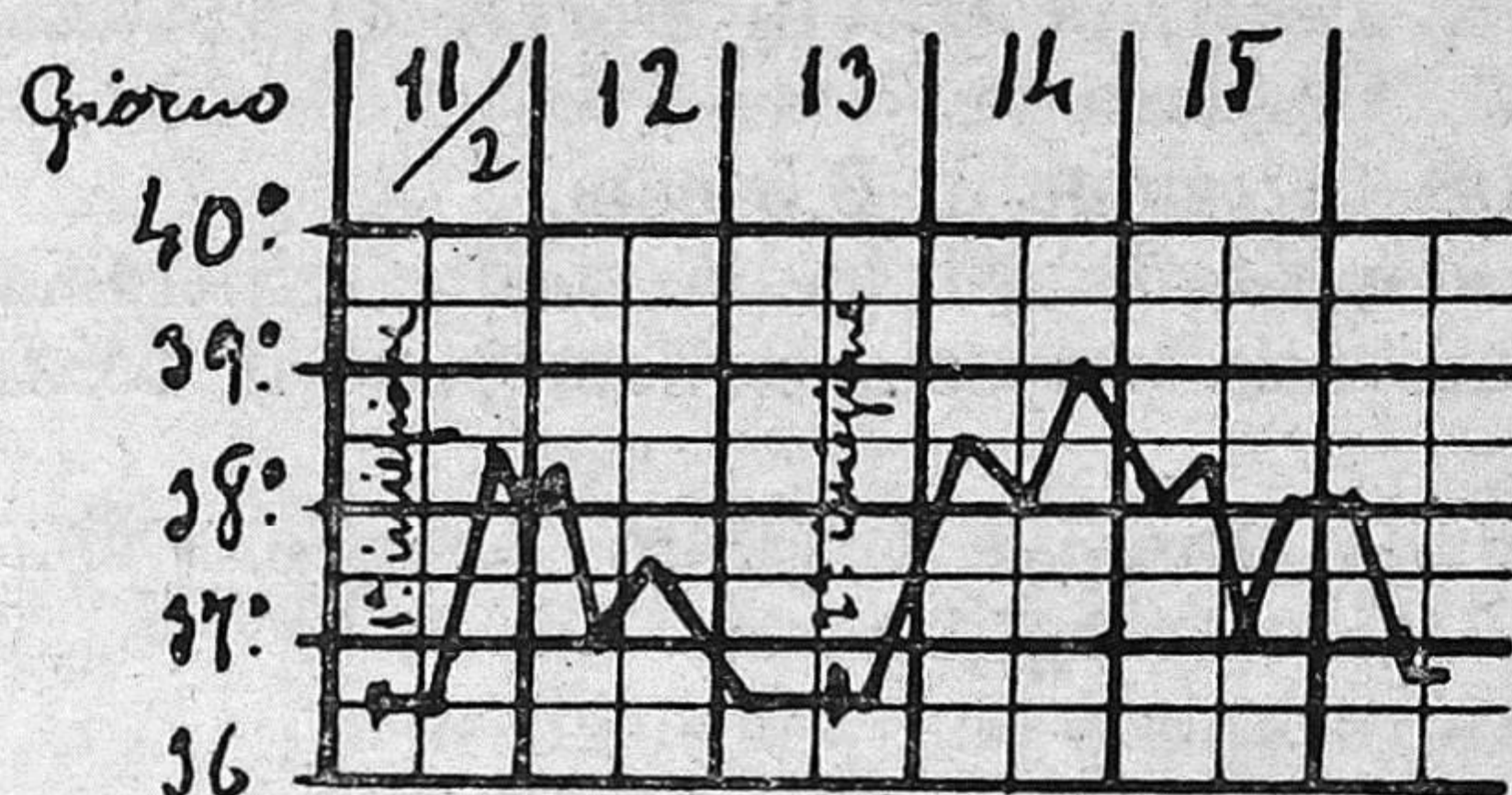
Tabella ottava

Siero-agglutinazione: Negativa all'1: 5 il giorno della prima iniezione, riesce decisa all'1: 10, dubbia all'1: 20 il giorno 20/11.

Tabella riassuntiva

Numero d'ordine	NOME E COGNOME	Valore raggiunto nella sieroagglutinazione		
		Prima delle iniezioni	8 giorni dalla prima	8 giorni dalla seconda
	Metodo di Pfeiffer-Kolle.			
1.	Valeggiani Giuseppe	+ 1 : 20	+ 1 : 60	
2	Pizzali Maria	— 1 : 5		+ 1 : 640
3	Dell'Acqua Angela	— 1 : 5		+ 1 . 164
4	Pozzi Maria	— 1 : 5	+ 1 : 20	+ 1:801:160?
5	Carenzio Gaetano	— 1 : 5	+ 1 : 80	+ 1 : 640
6	Bergamaschi Luigi	— 1 : 5		+ 1 : 320
7	Laurenti Rosa	— 1 : 5	+ 1 : 20	+ 1 : 160
	Metodo di Neisser-Shiga.			
8	Garzoli G. B.	— 1 : 5		+ 20
9	Necchi Maria	+ 1 : 5		+ 40
10	Albergati Maria	+ 1 : 10		+ 1 : 40
11	Preti Angela	+ 1 : 5		+ 1 : 20
12	Pellagri Bianca	— 1 : 5	+ 1:201:40?	
13	Chiodi Martina	+ 1 : 10		+ 1 : 20
14	Perotti Carlo	— 1 : 5	+ 1 : 10	
15	Malinverni Emilio	— 1 : 5		+ 1 : 10
16	Giorgi Angela	— 1 : 5		+ 1:1071:40

III.

Fenomeni locali e generali seguenti alle iniezioni.

Astraendo pel momento dalle nuove proprietà specifiche del sangue, i fenomeni immediati oggettivi e soggettivi che fanno seguito alle iniezioni di vaccino antitifico si possono raggruppare in due categorie: *fenomeni locali e fenomeni generali.*

Essenzialmente identici nei varii individui essi diversificano di intensità e di imponenza a seconda del processo impiegato e della suscettibilità individuale, si esauriscono in breve tempo e vanno attribuiti ai veleni liberatisi nella dissoluzione dei batteri.

Fenomeni consecutivi alle inoculazioni alla Pfeiffer–Kolle.

Fenomeni locali. — I fenomeni da noi osservati collimano perfettamente con quelli descritti dagli altri autori (Pfeiffer, Kolle, Hetsch, Kutscher, Friedberger, ecc.). Tutto attorno al punto di iniezione si stabiliva nello spazio di 2-5 ore un arrossamento spiccato intenso della cute che nelle prime dodici ore non sorpassava le dimensioni d'uno scudo. La pelle tumefatta, alquanto rilevata e nettamente limitata dalla cute circostante per un margine brusco regolarmente circolare, alla palpazione si rivelava in preda ad un processo acuto di infiltrazione pastosa, diffuso al corion sottostante.

Tale infiltrazione, che ai caratteri esterni dava abbastanza netta l'immagine d'una localizzazione di erisipela, all'infuori di una sensazione soggettiva di aumentato calore, e di forte tensione locale, non era spontaneamente dolorosa. Era però suscettibilissima ad ogni benchè minima pressione e toccamento. Il dolore era poi acutissimo ed insopportabile ove si provocassero pieghe alla cute in loco.

L'infiltrazione e l'arrossamento in seconda giornata dilagavano gradatamente ad occupare lo spazio d'un

palmo di mano, conservando in massima i primitivi caratteri fisici e dolorosi: la durezza di infiltrazione andava poi gradualmente risolvendosi, l'aumento locale di temperatura si abbassava alla norma, diminuiva la suscettibilità della cute alla pressione e l'infiltrato dissolventesi abbandonava le parti più alte per limitarsi solo alle laterali basse.

In terza giornata l'arrossamento era pressochè scomparso, l'infiltrazione ridotta ad un lieve turgore delle sole parti più declivi quasi indolenti anche alla palpazione: solo un piccolo noduletto delle dimensioni d'una nocciuola rimaneva sul punto d'innesto, per poi scomparire anch'esso gradatamente in seguito.

I gangli linfatici in generale non presentarono alcun interessamento: in due soli casi (N. 5-6) si ingrossarono e si fecero indolenti quelli inguinali superficiali prossimiori: in seguito ad un'applicazione di impacchi caldo umidi si risolsero in meno di ventiquattro ore.

Anche dopo la seconda iniezione l'insorgenza dei primi fenomeni variò dalle due alle sei ore. L'infiltrazione e l'arrossamento erano egualmente spiccati e presentavano gli stessi caratteri fisici e dolorosi della prima iniezione. La superficie infiltrata, prima limitata sulla faccia esterna del braccio ad uno spazio grande quanto uno scudo, in seconda giornata sciogLievasi guadagnando in basso le regioni distali del braccio e le prossimali dell'avambraccio, finchè in terza giornata tutto si andava riassorbendo. In nessun caso si ebbero alla seconda iniezione interessamenti da parte dei gangli linfatici.

Fenomeni generali. — Mentre dei fenomeni di reazione infiammatoria al punto di innesto minime erano le differenze tra un caso e l'altro, le variazioni individuali si delineavano più nette e recise in riguardo alla reazione generale.

In tutti i casi nel lasso di tempo da una a quattro ore dell'innesto si iniziava una reazione febbrile di differente intensità.

L'ingredire, come nelle malattie infettive acute,

era caratterizzato in genere da malessere generale cefalea gravativa specialmente frontale, senso di stanchezza, di rottura, ed era per lo più, immediatamente preceduto da brividi intensi della durata da mezza ora ad un'ora e più, seguiti da senso di calore durante i quali fenomeni la temperatura si innalzava bruscamente raggiungendo il massimo per lo più tra la decima e la dodicesima ora e toccando in un caso i 39.9° (N. 6), in un altro i 39° (N. 5), in altri due solo i 38°.

Mai l'ingredire della febbre fu graduale: questa si manteneva alta presso a poco al livello massimo raggiunto per la durata di 6-8 ore, dopo di che declinava rapidamente con una brusca discesa interrotta da un nuovo innalzamento in seconda giornata, che una volta (N. 5) raggiunse l'altezza della prima punta, negli altri casi rimase sempre al disotto.

Dopo una nuova sosta di 4-6 ore, ripigliava la discesa rapida che astraendo da qualche piccola oscillazione di decimi di grado, riportava entro le 48 ore dall'innesto il paziente alla apiressia. La seconda discesa critica della febbre era accompagnata da profusi sudori, dopo i quali l'a. cadeva in un sonno profondo da cui si risvegliava ristorato, con diminuzione o scomparsa dei disturbi generali.

I pazienti in genere per tutto il tempo della febbre accusavano anoressia, nausea, sete intensa, agitazione ed insonnia: non si ebbe mai vomito nè erpete. Il polso, frequente durante l'accesso febbrile, conservava il suo ritmo regolare e l'aumentata frequenza era in rapporto coll'innalzarsi della temperatura: anche il lieve acceleramento del ritmo respiratorio era da ascriversi alla temperatura febbrile.

Le orine, un po' diminuite durante l'accesso, non presentarono tracce d'albumina nè durante nè dopo la febbre.

Dopo la seconda iniezione l'insorgere e il decorso della febbre si svolgeva presso a poco come dopo la prima: solo la defervescenza era alquanto prolungata in una discesa graduale a sbalzi con due o tre

punte decrescenti, del tipo della lisi rapida; mai però si dilungò oltre la 60ª ora.

In generale i fenomeni soggettivi concomitanti erano meno intensi che non nel primo accesso: ma anche qui si mantenevano fino allo scomparire della febbre che avveniva in mezzo a sudorazione profusa e lasciava il paziente in preda ad un sonno ristoratore.

L'altezza della febbre nel secondo accesso era in generale eguale a quella del primo: solo nel N. 7, in cui alla prima iniezione si aveva avuto un innalzamento di 38°5, alla seconda si raggiunsero i 39°4. Invece nel numero 4, in cui anche nel primo accesso, pur raggiungendo i 38°, non si aveva avuto alcun fenomeno generale soggettivo, alla seconda iniezione non si ottenne nè aumento di temperatura, nè reazione alcuna da parte dell'organismo.

Fenomeni consecutivi alle iniezioni alla Neisser-Shiga.

Fenomeni locali. — Anche col materiale di inoculazione ottenuto col metodo di Neisser-Shiga si ebbero al punto di innesto, tanto alla prima che alla seconda iniezione, intensi fenomeni reattivi. La reazione locale qui anzi era precoce e più accentuata che non col materiale di Pfeiffer-Kolle. Già a qualche ora di distanza dalla iniezione si stabiliva un'infiltrazione assai pronunciata, color rosso-intenso, nettamente delimitata dalla cute circostante.

Anche qui la palpazione suscitava nel paziente vivissimo dolore. La diffusione dell'infiltrato per continguità era più marcata e corrispondentemente anche la dissoluzione precoce. In tre casi dopo la prima iniezione l'infiltrazione, già in principio della seconda giornata aveva occupato tutto un quadrante inferiore dell'addome ed alla palpazione si presentava più pastosa e fluida che non nei casi trattati alla Pfeiffer-Kolle.

Dopo la seconda iniezione nella maggior parte dei casi d'infiltrazione, aveva invaso, tra la prima e la seconda giornata, tutta la regione postero-esterna del braccio e parte dell'avambraccio, avvolgendo l'arto come in una semidoccia infiltrata ed arrossata. In tutti i casi in terza giornata l'infiltrazione era stata assorbita e, all'infuori d'un piccolo noduletto al punto d'innesto, tutto si era ridotto alla norma.

Fenomeni generali. — I fenomeni generali invece insorgenti a seguito degl'innesti col materiale preparato secondo Neisser-Shiga erano assai modesti. In due dei nove casi osservati non si ebbe alcun risentimento nè alla prima nè alla seconda inoculazione: in altri cinque si notò solo leggiero senso di spossatezza, lieve cefalea frontale e inappetenza: in questi casi l'innalzamento brusco della temperatura era preceduto da modica sensazione di freddo e arrivava a 37.°5-38°; dopo 6-8 ore principiava una brusca defervescenza che in poco tempo riportava la temperatura alla norma. Tutto il processo febbrile era estinto nelle 24 ore. La febbre ripigliava poi nuovamente alla seconda iniezione col medesimo contegno qui però il maximum raggiunto fu sempre superiore a quello della prima (*ricordiamo il minore intervallo intercedente fra di esse*); in un caso da 37.°2, quale era alla prima iniezione, si portò a 38°.2 (N. 8) in altri da 37°.7 a 39.°6 (N. 10). Anche qui mentre la defervescenza della prima iniezione avveniva bruscamente per crisi, il tracciato della seconda presentava degli sbalzi con due o tre punte decrescenti, prima di arrivare alla temperatura normale; alla discesa critica tendeva sostituirsi una defervescenza per lisi.

In un caso solo (N. 12) l'andamento della febbre assunse un carattere più brusco e violento: a 5 ore dall'innesto si ebbe brivido intensissimo, accompagnato da imponenti fenomeni generali, prostrazione generale, malessere, intensa cefalea; la temperatura rag-

giunse i 40 per poi precipitare in 6 ore circa alla norma per crisi. In questo caso, in cui i fenomeni locali non erano stati per nulla maggiori che negli altri, non si potè procedere ad una seconda iniezione.

IV.

Potere agglutinante dello siero di sangue.

Nei controlli da me eseguiti per la ricerca degli anticorpi specifici neoformati, mi limitai alla determinazione del solo potere agglutinante del siero trattato.

Veramente noi non possediamo la certezza che i poteri batteriolitico ed agglutinante, sui quali si basarono tutti gli sperimentatori nell'estimazione della immunità, rappresentino la essenza dell'immunizzazione e ne siano gli esponenti diretti; tuttavia è fuor di dubbio che un qualche rapporto fra i due fenomeni — immunità e poteri difensivi dello siero — esiste, ed in mancanza della possibilità di valutare direttamente il grado raggiunto della prima il miglior criterio è dato dalla misura delle dette proprietà.

Mi sono limitato a determinare il titolo agglutinante, trascurando quello batteriolitico; infatti, pur non esistendo tra le due proprietà un nesso indissolubile, esse sono in questo campo almeno tra loro in stretta relazione e, come lo dimostrano i rilievi del Leishmann e del Wright, si ha un evidente parallelismo e una chiara analogia di comportamento nel modo di sorgere e di crescere delle due proprietà. Per cui, tenuto calcolo della maggior facilità di ricerca esatta e di controllo della agglutinazione, a confronto della bateriolisi, la quale per raggiungere una sufficiente esattezza, va eseguita col metodo assai più complesso del Pfeiffer, mi sono limitato nelle mie ricerche alla semplice determinazione del potere agglutinante del siero.

La tecnica usata fu la solita che si impiega nel laboratorio del nostro Istituto. Si aspirava il giorno

del primo innesto, prima di procedere all'inoculazione, e 8-10 giorni dopo le singole iniezioni, dalla vena mediana del gomito 5-10 ccm. di sangue in una siringa sterile di vetro e dello siero si stabiliva il potere agglutinante. Per la determinazione si seguiva il metodo macroscopico, distribuendo in serie di provette un ccm. di siero diluito rispettivamente all'1/5 1/10, 1/20 ecc. di soluzione fisiologica sterile ed emulsionando in ogni provetta un'ansa normale di agar-coltura di tifo di 24 ore.

La coltura usata era lo stesso tifo campione del laboratorio che aveva servito alla preparazione del materiale di iniezione. Le diluizioni così ottenute erano lasciate due ore in termostato a 37°, poi osservate e controllate dopo altre due ore.

In 4 dei 16 casi osservati si notò già prima delle iniezioni una agglutinazione positiva, d'un tasso che raggiungeva l'1 : 20 in un caso, in due l'1 : 10 ed in un ultimo l'1:5 — senza che, ripetiamo, nell'anamnesi potesse mettersi in luce pregressa infezione tifoide.

In tutti i casi osservati si ebbe comparsa od aumento del potere agglutinante. Esso variava di valore a seconda degli individui; però mentre le oscillazioni degli iniettati col medesimo processo sebbene discrete, erano tali da potersi mettere in relazione colle diverse suscettibilità individuali, le differenze si facevano molto più marcate ed evidenti ove si paragonavano fra loro i risultati ottenuti col metodo di Pfeiffer-Kolle da una parte e di Neisser-Shiga dall'altra.

Reperti ottenuti col metodo di Pfeiffer-Kolle.

Dei sette individui trattati con questo metodo, sei furono potuti sottoporre a due iniezioni di materiale vaccinico ed in questi si ebbe per esito, che, mentre prima degli innesti il potere agglutinante era stato in tutti negativo all'1: 5, in media i valori ottenuti dopo la prima iniezione, raggiunsero l'1: 50 e dopo la seconda oscillarono fra un minimo di 1: 60 ed un massimo di 1 : 640.

Si notò che, laddove le reazioni locali rivestivano pressochè uguale intensità in tutti gli iniettati, di questi, quelli che avevano reagito maggiormente con fenomeni generali (N. 2, 5, 6, 7,) mostrarono poi altresì un più spiccato valore agglutinante. Questo rapporto che nei nostri casi risulta, aveva già colpito Hetsch e Kutscher; esso non sembra però costante, non essendo stato poi riscontrato da Wright, Friedberger, Bischoff ed altri.

Reperti avuti col metodo di Neisser-Shiga.

Con questo metodo furono trattati nove individui, di cui sei sottoposti a doppia iniezione.

Il valore agglutinante raggiunto in queste esperienze non fu alto come quello ottenuto da Shiga e da Sclavo e si mantenne molto al disotto del tasso medio avuto col metodo di Pfeiffer-Kolle, oscillando da 1: 10 ad un massimo di 1:40 ottenuto però solo in due casi in cui già prima delle inoculazioni si aveva un valore agglutinante del rapporto di 1:10 e l'1:5. Il massimo valore raggiunto in casi completamente negativi all'inizio delle esperienze fu di 1:20.

Anche in questi iniettati il valore agglutinante dello siero non mostrava rapporto alcuno colla intensità della reazione locale infiammatoria; e dai rapporti ottenuti neppure era decifrabile nettamente, come nei casi col Pfeiffer-Kolle, un nesso tra l'imponenza dei fenomeni reattivi generali e l'altezza del potere agglutinante raggiunto.

V.

Considerazione e conclusione.

Abbiamo visto che i disturbi dovuti all'infiammazione reattiva locale, nei due metodi di Pfeiffer-Kolle e di Neisser-Shiga, appartengono allo stesso tipo

pur rivestendo una certa maggiore intensità nel secondo. In questo la più forte reazione è forse dovuta al più facile assorbimento delle endotossine già sciolte dell'autolisi nel liquido di iniezione (Hatsch e Kutscher-Friedberger), mentre in quello di Pfeiffer-Kolle i materiali tossici sono ancor legati ai corpi batterici e solo lentamente verrebbero messi in libertà.

La réazione generale invece nelle inoculazioni alla Neisser-Shiga ha una forza molto minore che non in quelle alla Pfeiffer-Kolle. Con quest'ultimo metodo si ha l'insorgenza di febbre alta a rapido ingredire, accompagnata da spiccati fenomeni generali che di regola mancano col processo di Neisser-Shiga.

Per contro il valore effettivo immunizzatorio dei due metodi — almeno in quanto può giudicarsi dal potere agglutinante conferito allo siero — dalle mie esperienze ci risultò alto ed evidente col Pfeiffer-Kolle meno pronunciato col Neisser-Shiga. Non ci sembra che questo risultato vada messo in rapporto coll'intervallo più breve intercedente fra le due iniezioni alla Niesser-Shiga, perchè esso fu già rilevato dalle esperienze di Kolle, Hetsch e Kutscher e poi confermato da ulteriori sperimentatori (Paladino-Blandini).

All'infuori delle descritte reazioni locali e generali come noi, nessun autore mai ebbe a deplorare altri inconvenienti dalla immunizzazione attiva contro il tifo o alcun danno residuo alla salute degli inoculati.

E' quindi desiderabile che, proseguendo l'utile iniziativa del prof. Sclavo, anche da noi ulteriori esperimenti di immunizzazione artificiale antitifica vengano sistematicamente e su larga scala istituiti, specie in quelle regioni in cui più facili sono a temersi le infezioni tifose, onde trarre sempre nuovi e maggiori elementi di giudizio sul valore della immunizzazione attiva.

Ormai solo dai rilievi e dai risultati di estese e diffuse statistiche può esser detta l'ultima parola sull'effettivo valore della nuova pratica e solo essi dovranno dettarne le definite regole di applicazione.

BIBLIOGRAFIA.

1. **Bassenge** und **Rimpau.** — *Festschrift für Koch* — 1903.
2. **Besredka** — De l'immunisation active contre la peste, le choléra et l'infection tiphyque — *Ann. Inst. Pasteur* 1904 - Tom. XVI.
3. **Cortellini** - Prove di vaccinazione antitifica nell'uomo — *Rivista Critica di Clinica Medica,* 1905, n. 40-42.
4. **Friedberger** — Die Methoden der Schutzimpfung gegen Typhus Darstellung der Impfstoffs. Handbuch der Technick u. Methodik der Immunitaesforschung 1908.
5. **Friedberger** und **Moreschi** — Vergleicheude Untersuchungen ueber die aktive Immunisierung von Kanninchen gegen Cholera u. Typhus. — *Centralblat für Bakt. Abt.* 1905.
6. **Friedberger** und **Moreschi** — Beitrag zur aktiven Immunisierung des Menschen gegen Typhus. — *Deuts. med. Woch.*, 1906, n. 49.
7. **Gaffsky - Kolle - Hetsch - Kutscher** — Ueber Typhus Schutzimpfung, 1905.
8. **Morgenrot** — *Arch. f. Schiffs. und Tropenhygiene,* 1905.
9. **Neisser** e **Shiga** — *Deutsche med. Wochenschr.*, 1905.
10. **Netter** — Les inoculations préventives contre la fièvre typhoïde — *Bulletin Ann. Inst. Pasteur,* 1906, numeri 21-24.
11. **Paladino Blandini** — Profilassi specifica del tifo addominale — *Annali di igiene sperimentale* XV — 1905.
12. **Pfeiffer** und **Kolle** — Experim. Untersuchungen zur Frage der Schutzimpfung des Menschen gegen Typhu abdominalis. — *Deut. med. Woch.,* 1896.
13. **Shiga.** — Ueber aktive Immunisierung von Menschen gegen den Typhusbazillus. — *Berl. kl. Woch...* 1904.
14. **Sclavo** — Di un primo esperimento pubblico di vaccinazione antitifica eseguito in Italia — *Rivista Critica di Clinica Medica,* 1905, n. 40.
15. **Triglia** e **Mazzuoli** — Prove di vaccinazione antitifica nell'uomo — *Clinica Medica Italiana,* 1905.
16. **Ward** — *Journal of the Army medical corp,* 1906.
17. **Wassermann** — *Festchrift für Koch,* 1903.
18. **Wright** — *Lancet,* 1906.
19. **Wright** e **Leishman** — *British medical Journal.* 1900.